View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Tsukuba Repository

# Regulation of circadian clock by nuclear hormone receptors in mammals

| | |
|---|---|
| 著者 | 白井 秀徳 |
| 内容記述 | "January 2007"--Cover<br>Thesis (Ph. D. in Agricultural Science)--University of Tsukuba, (A), no. 4341, 2007.3.23<br>Includes bibliographical references (leaves 40-45) |
| 発行年 | 2007 |
| URL | http://hdl.handle.net/2241/91551 |

【201】

| | |
|---|---|
| 氏　名（本籍） | 白井秀徳（東京都） |
| 学位の種類 | 博　士（農　学） |
| 学位記番号 | 博甲第 4341 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 19 年 3 月 23 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 |
| 審査研究科 | 生命環境科学研究科 |
| 学位論文題目 | **Regulation of Circadian Clock by Nuclear Hormone Receptors in Mammals**<br>（核内受容体による哺乳類概日時計の制御） |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 主　査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 石田直理雄 |
| 副　査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 深水昭吉 |
| 副　査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 内山裕夫 |
| 副　査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 馬場　忠 |

## 論文の内容の要旨

地球上のほとんど全ての生物は体内に概日時計を持っており，代謝や行動など様々な生理現象が約 1 日周期のリズムを示す。哺乳類においてこの概日リズムは視床下部の視交叉上核（Suprachiasmatic nucleus, SCN）に存在する中枢時計により制御されている。概日時計は心臓，肝臓，腎臓といった末梢組織にも存在し，SCN に同調したリズムを刻んでいる。近年の時計遺伝子の発見により概日時計の分子機構が明らかになってきており，時計遺伝子から産出された時計タンパク質が自体の転写を抑制するという，オートフィードバックループによる機構が存在すると考えられている。哺乳類ではこの機構に *period* や *cryptochrome*，転写因子の CLOCK や BMAL1 が関わっていることが知られている。核内受容体はステロイドホルモンやレチノイン酸等の脂溶性リガンドに対する受容体の総称で遺伝子ファミリーを形成する。また，核内受容体は特異的リガンドと結合し，標的遺伝子のプロモーター上の応答配列を認識して結合することにより転写促進作用を発揮することが知られている。核内受容体による時計の制御に関しては現在までにグルココルチコイド受容体のリガンドがマウスの肝臓における時計遺伝子の発現リズムを変えること，また培養細胞において時計遺伝子がリズムを持って発現する引き金となり得ることなどが報告されているが，他の核内受容体の関与も含めて明らかにされていることは少ない。そこで核内受容体による時計の制御を明らかにすることとした。まず時計に影響を与える核内受容体をスクリーニングした。時計機構に中心的な役割を果たす時計遺伝子 *period1*（*Per1*）の発現を変化させる核内受容体のリガンドとして，レチノイン酸がその転写活性を増強させることがわかった。概日リズムに対するレチノイン酸の関与を調べるために，マウスにレチノイン酸欠乏食を与え，レチノイン酸欠乏状態での肝臓における時計遺伝子の発現リズムを調べたところ，その発現リズムはほとんど変化しなかった。レチノイン酸欠乏食の投与により肝臓中また血中レチノイン酸濃度は顕著に低下していた。しかしレチノイン酸は欠乏させた場合においても局所的に蓄積されることが報告されている。以上の結果よりレチノイン酸はオータコイドとして働き，局所的に時計遺伝子の発現リズムに影響を与える可能性が考えられた。レチノイン酸受容体はペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体（Peroxisome Proliferator Activated Receptor；PPAR）とヘテロダイマーを形成して応答配列に結合し，遺伝子の転写を活性化することが知られている。次に概日リズム形成における PPAR の関与を調べた。PPAR のアイソ

フォームの一つであるPPARαのリガンドで，高脂血症治療薬として臨床で使用されているベサフィブレートをマウスに投与したところ，行動の位相が前進した。投与開始から2週間後には約3時間位相が前進した状態となった。PPARαの発現量の多い肝臓の時計遺伝子の概日リズムを調べると投与開始から2週間後では顕著に減弱していた。これらのことからベサフィブレートは行動リズムだけでなく，末梢組織での時計遺伝子の発現リズムも変えることがわかった。今回の研究により核内受容体による概日時計の制御機構の一端が明らかとなった。核内受容体はホルモンなどの生体内物質や薬剤・食物中の成分といった外因性物質など様々な物質をリガンドとすることが知られる。核内受容体の概日時計への関与をさらに詳しく調べることで，概日時計機構の更なる解明が可能となり，また副作用の起こりにくい薬剤投与時間の設定など医療への応用なども可能であると考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

概日時計の入力系に関する研究は始まったばかりである。脂溶性リガンドが核内受容体を介して，時計遺伝子フィードバックループに影響を与える可能性を考えて白井君はまず，様々な核内受容体リガンドの中でレチノイン酸が時計遺伝子Period1の発現を増強させる事を見出した。さらに，レチノイン酸受容体とヘテロダイマーを形成して遺伝子の発現を調節するペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（PPARα）の関与を生体内で調べた。PPARαのリガンドで高脂血症剤として使用されているベザフィブレートが行動の位相を前進させる事を見出した。

PPARαが生体内でも生物時計を調節することを示した独創的な研究でSCN破壊実験から末梢時計を介した作用と考えられた。

よって，著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。